

POTENSI EKSTRAK DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita*) SEBAGAI ANTI *Plasmodium falciparum*

Potency of Paliasa (Kleinhovia hospita) Leaves Extract as Antiplasmodial against Plasmodium falciparum

Mery Budiarti* dan Wahyu Jokopriyambodo

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT)
Jalan Raya Lawu no. 11, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, 57792

INFO ARTIKEL

Article history:

Diterima: 09 Februari 2020

Direvisi: 30 Juni 2020

Disetujui: 12 November 2020

Kata kunci:

Kleinhovia hospita;
antimalarial; phytochemical
screening; in vitro test.

Keywords:

Kleinhovia hospita;
antimalaria; penapisan
fitokimia; pengujian in vitro.

ABSTRAK/ABSTRACT

Paliasa (*Kleinhovia hospita*) dikenal sebagai salah satu jenis tumbuhan yang telah digunakan secara empiris sebagai obat malaria terutama di bagian Timur Indonesia. Namun, publikasi ilmiah terkait aktivitas antiplasmodium bahan alam tersebut masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi antiplasmodium dari daun paliasa terhadap parasit *Plasmodium falciparum*. Tahapan penelitian meliputi persiapan sampel dan ekstrak, pengujian aktivitas antiplasmodium secara *in vitro* pada *P. falciparum* strain 3D7, dan penapisan fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sampel penelitian berupa ekstrak dan fraksi diperoleh melalui proses maserasi selama 3 x 24 jam dalam pelarut etanol *pro analysis*, kemudian dilanjutkan dengan partisi cair-cair bertingkat menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol *pro analysis*. Pengujian antiplasmodium *in vitro* menunjukkan fraksi etil asetat (IC_{50} 1,08 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) dan heksana (IC_{50} 3,69 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) memiliki aktivitas dengan kategori sangat aktif. Penapisan fitokimia daun paliasa menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid. Senyawa alkaloid terpenoid berupa sikloartane triterpenoid alkaloid. Daun paliasa diduga berperan aktif sebagai senyawa antiplasmodium. Namun, perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut untuk memastikan jenis senyawa aktif tersebut serta mekanismenya sebagai antiplasmodium.

Paliasa (Kleinhovia hospita) is known as a plant that has been used empirically for malaria treatment, especially in Eastern Indonesia. However, scientific publications regarding to the antiplasmodial activity of these natural resources are still limited. The aim of this study was to examine the potency of paliasa leaves as antiplasmodial against Plasmodium falciparum parasite. The procedure included sample and extract preparation, antiplasmodial in vitro activity testing on P. falciparum strain 3D7, and phytochemical screening using Thin Layer Chromatography (TLC). The extracts and fractions were prepared through maceration process for 72 hours with 96% ethanol, then continued with multilevel liquid-liquid partition using hexane, ethyl acetate and 96% methanol. Antiplasmodial in vitro testing showed that ethyl acetate (IC_{50} 1.08 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) and hexane (IC_{50} 3.69 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) fractions were include to the highly activity category. The research samples contained alkaloids, triterpenoids and steroids as the major compounds. The terpenoid alkaloid compound was a cycloartane triterpenoid alkaloid that had been isolated from paliasa leaves. Therefore, it is assumed that the leaf of paliasa has a compound with antiplasmodial activity. However, more research needs to be done to determine the active compound and the antiplasmodial mechanisms involved.

* Alamat Korespondensi : bsupriadi.mery@gmail.com

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu ancaman dunia karena tingginya angka kematian per tahun. WHO mendefinisikan malaria sebagai suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium* (Tanner *et al.* 2015). Indonesia termasuk tiga negara ASEAN dengan morbiditas malaria tertinggi, karena Indonesia adalah negara tropis yang sesuai untuk berkembangbiakan 25 spesies nyamuk *Anopheles* yang reseptif malaria. Empat jenis parasit penyebab penyakit malaria, yaitu *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, dan *P. ovale*. *P. falciparum* dan *P. vivax* merupakan dua jenis parasit terdistribusi merata di seluruh provinsi dan cenderung mendorong tingginya kasus malaria di Indonesia. Pada tahun 2017, angka API (*Annual Parasite Incidence*) di Indonesia telah mengalami penurunan yang signifikan dari tahun sebelumnya, yaitu sebesar 0,9 per 1000 populasi (Sitohang *et al.* 2018). Namun, pencapaian tersebut tidak tersebar merata di seluruh wilayah Indonesia. Kementerian Kesehatan RI menetapkan fase pre-eliminasi pada tahun 2015-2020 dan bebas penularan malaria pada tahun 2030 (Hutagalung *et al.* 2016).

Berbagai upaya pengendalian malaria sesuai rekomendasi WHO telah dilaksanakan secara global, tetapi peningkatan jumlah dan penyebaran parasit yang resisten terhadap obat antimalaria serta vektor yang resisten terhadap insektisida menjadi salah satu hambatan tersendiri (Nindela 2015). Parasit *P. falciparum* cenderung dapat menjadi resisten terhadap obat antimalaria daripada spesies parasit lainnya. Bahkan, *P. falciparum* dimungkinkan telah resisten terhadap hampir seluruh obat malaria konvensional yang telah ada sebelumnya, seperti klorokuin, primakuin, artemisinin dan sebagainya. Peristiwa resistensi tersebut dapat memberikan dampak kegagalan terapi, dan menyebabkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas akibat malaria di beberapa daerah endemik (Hafid *et al.* 2017). Penelitian pengembangan vaksin malaria dan inovasi pengobatan lainnya masih terus berlangsung, sehingga kegiatan penelitian yang terkait dengan penemuan obat baru tetap menjadi salah satu upaya penting dalam eliminasi malaria (Ridley 2002).

Etnomedisin adalah salah satu pendekatan yang dapat digunakan dalam upaya penemuan obat baru, salah satunya untuk penyakit malaria. Dua jenis obat malaria yang telah digunakan, yaitu kuinin dan artemisin juga berasal dari studi etnomedisin yang berbasis tumbuhan obat (Abiodun *et al.* 2011). Eksplorasi tumbuhan obat

sangat penting dalam penemuan obat baru karena tumbuhan memiliki banyak kandungan senyawa yang menentukan kemampuan bioaktifnya. Hal ini didukung oleh banyaknya penelitian klinis tumbuhan obat terkait penggunaannya secara tradisional dan korelasinya dengan aktivitas bioaktif dari kandungan senyawa kimianya selama beberapa dekade terakhir (Giang dan Otsuka 2018; Ginsburg dan Deharo 2011). Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA) yang dilaksanakan pada tahun 2012, 2015 dan 2017 telah mengidentifikasi 32.013 ramuan. Salah satu kelompok penyakit dengan data ramuan terbanyak adalah malaria, yaitu sebanyak 1.013 ramuan yang terdiri atas beragam jenis tumbuhan obat sebagai komponen penyusunnya (Wahyono *et al.* 2017).

Salah satu jenis tumbuhan obat yang digunakan dalam pengobatan tradisional malaria pada database RISTOJA adalah *Kleinhovia hospita* (Malvaceae) yang banyak tumbuh di Indonesia, Malaysia dan Papua Nugini. Data RISTOJA menunjukkan bahwa secara empiris paliasa digunakan sebagai bahan pengobatan antimalaria pada 5 ramuan dari beberapa etnis seperti etnis Alfuru (*kinar*), Buru (*kinar*) dan Danar (*ay kivut*) di Provinsi Maluku serta etnis Kedang (*angar*) di Provinsi Nusa Tenggara Timur. Beberapa etnis lain juga diketahui menggunakan tumbuhan tersebut sebagai obat kencing manis, demam, hepatitis, ginjal, penyakit lambung, dan kolesterol (Wahyono *et al.* 2017).

Antikanker terhadap sel leukimia murin (P 388), sel karsinoma kolorektal (HCT 116), dan sel karsinoma gaster (SGC 7901) (Arung *et al.* 2012) juga sebagai antioksidan dan hepatoprotektor (Raflizar dan Sihombing 2009). Beberapa senyawa telah berhasil diisolasi dari paliasa, diantaranya daun memiliki kandungan senyawa asam lemak dengan cincin siklopropenilik (scopoletin, kaempferol dan kuersetin), pentasiklik triterpenoid, steroid C29, sikloartane triterpenoid alkaloid (*Kleinhospitines A, B, C, D*), dan eleutherol. Kulit batang dan akar memiliki kandungan 2,3-dihidroksi-12-oleanen-28-oat dan 2-hidroksi-12-oleanen-28-oat (Noor *et al.* 2004; Paramita 2016; Zhou *et al.* 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi bioaktivitas daun paliasa sebagai antiplasmodium terhadap parasit *P. falciparum* strain 3D7 melalui pengujian secara *in vitro*. Parasit *P. falciparum* strain 3D7 diketahui sensitif terhadap klorokuin dan sulfadoksin resisten dan telah banyak digunakan sebagai bahan dalam penelitian aktivitas antiplasmodium (Rathod *et al.* 2002).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu dan Laboratorium Malaria, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya. Pelaksanaan penelitian telah mendapatkan pembebasan persetujuan etik (*exempted*) dengan nomor LB.02.01/2/KE215/2017 dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pelaksanaan penelitian meliputi tahapan ekstraksi daun paliasa, uji *in vitro* anti *P. falciparum*, dan penapisan fitokimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, 24 perlakuan dan masing-masing diulang dua kali. Jenis perlakuan yang diberikan berupa pengujian dengan menggunakan satu seri konsentrasi untuk masing-masing sampel uji, yaitu ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol (Gambar 1).

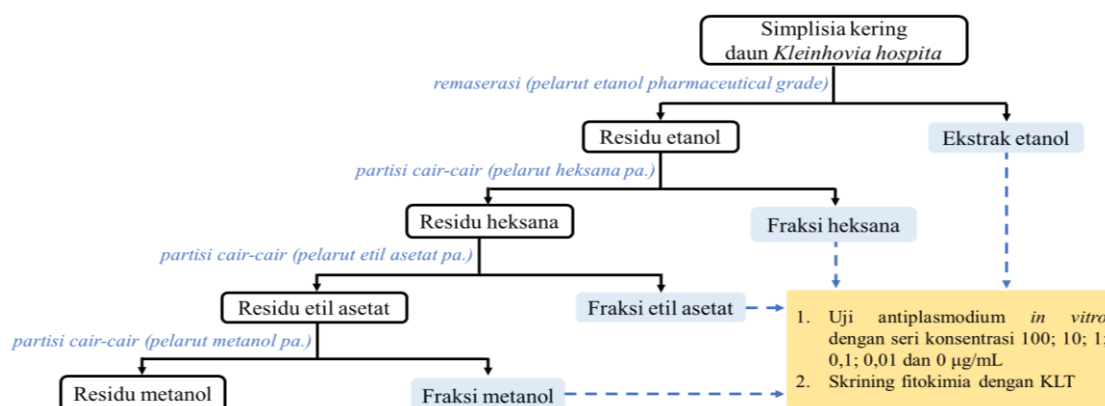
Persiapan dan ekstraksi daun paliasa

Bahan penelitian berupa daun paliasa segar sebanyak 10 kg yang dipanen dari pohon berumur 10 tahun dari salah satu instalasi kebun B2P2TOOT di Citeureup, Jawa Barat (Gambar 2). Pengambilan daun dilakukan pada bulan Agustus 2017 saat memasuki musim kemarau dengan curah hujan berkisar 75-100 mm. Daun segar disortasi, dicuci dan dikeringkan pada oven suhu 40°C selama 3 x 24 jam hingga diperoleh kadar air <10%, dengan rendemen berat bahan segar dan kering sebesar 1:10. Selanjutnya 1 kg simplisia dibuat serbuk dan difiltrasi dengan saringan 40 mesh. Filtrat kemudian diekstraksi dengan metode remaserasi selama tiga hari dalam pelarut etanol

pharmaceutical grade 96% sebanyak 5000 ml. Ekstrak maserasi disaring dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, kemudian dikeringkan pada suhu 40°C menggunakan oven. Residu yang dihasilkan dilakukan remaserasi menggunakan etanol *pharmaceutical grade* 96% sebanyak 5000 ml dan didiamkan selama tiga hari. Selanjutnya dilakukan proses penyaringan, pemekatan dan pengeringan kembali. Total ekstrak etanol yang diperoleh digabung, ditimbang dan ditentukan rendemennya. Rendemen ekstrak ditentukan melalui perhitungan mengikuti Wijaya *et al.* (2018):

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100\%$$

Tahap selanjutnya adalah melakukan partisi cair-cair menggunakan heksana, etil asetat dan metanol *pro analysis* yang dilakukan secara bertingkat. Ekstrak etanol sebanyak 10 g terlebih dahulu dilakukan partisi menggunakan 1000 ml heksana (EMSURE® 104374) *pro analysis*. Selanjutnya dilakukan pengocokan atau ekstraksi cair-cair dan pemisahan berulang kali hingga diperoleh filtrat heksana dengan warna yang cukup jernih. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dikeringkan pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kering dan ditentukan nilai rendemennya. Residu yang diperoleh diekstraksi kembali menggunakan metode partisi cair-cair dengan prosedur yang sama seperti sebelumnya, secara berturut-turut, menggunakan pelarut etil asetat (EMSURE® 109623) dan metanol (EMSURE® 106009) *pro analysis*.



Gambar 1. Bagan perlakuan daun paliasa (*K. hospita*)
Figure 1. The treatment chart of paliasa leaves (*K. hospita*)



Gambar 2. Daun paliasa (*K. hospita*) yang digunakan
Figure 2. The used paliasa leaves (*K. hospita*)

Pengujian aktivitas antiplasmodium secara *in vitro*

Prosedur pengujian aktivitas antiplasmodium dilakukan di Laboratorium Malaria, *Institute of Tropical Disease*, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga Surabaya menggunakan metode standar Trager dan Jensen dengan modifikasi (Hafid *et al.* 2017). Pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan parasit *P. falciparum* strain 3D7 dengan pewarnaan Giemsa. Uji aktivitas *in vitro* dengan *P. falciparum* merupakan uji pendahuluan untuk mengevaluasi bahan yang diduga prospektif sebagai antimalaria. Pengujian ini menggunakan senyawa artemisinin 98% (Sigma Aldrich 361593) sebagai kontrol positif dengan seri konsentrasi 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001; dan 0,000001 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Larutan DMSO (dimetil sulfoksida) 2% (v/v) digunakan sebagai media pelarut sampel uji dan kontrol negatif. Berikutnya, serial konsentrasi ekstrak ataupun fraksi yang digunakan masing-masing sebesar 100; 10; 1; 0,1; 0,01 dan 0 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Pembuatan seri konsentrasi bahan uji dilakukan dengan melarutkan masing-masing sampel pada DMSO dan ditambahkan media yang terdiri dari larutan buffer HEPES, hipoksantin, RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), larutan NaHCO_3 dan gentamisin yang telah melalui proses sterilisasi. Setiap larutan uji di kultur dalam suspensi biakan parasit malaria *P. falciparum* dengan kepadatan parasit 1% dan hematokrit 5% dalam 24 *microwell plate disposable*, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Sediaan pelet hasil inkubasi dipanen dan dibuat sediaan apus darah tipis yang difiksasi dengan metanol selama 5 detik dan dikeringanginkan. Hasil fiksasi yang telah kering diwarnai dengan giemsa 20%, dibiarkan selama 10 menit, dicuci dengan air dan dikeringanginkan

kembali. Perlakuan pengujian ini dilakukan sebanyak dua ulangan. Apusan darah tipis diperiksa dengan mikroskop perbesaran 100 kali. Berikutnya, dihitung eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* untuk menentukan tingkat parasitemia. Kloub (2019) menjelaskan bahwa persentase parasitemia menunjukkan kuantitas eritrosit yang terinfeksi parasit dalam ± 1000 eritrosit atau 10 ruang pandang dengan rumus:

$$\text{Parasitemia (\%)} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100\%$$

Berikutnya, menentukan nilai persentase pertumbuhan dengan rumus mengikuti Kloub (2019):

$$\text{Pertumbuhan (\%)} = \text{Dx (\%)} - \text{D0 (\%)}$$

dimana, Dx adalah persentase parasitemia pada jam ke-48 dan D0 adalah persentase parasitemia pada jam ke-0. Selanjutnya, menghitung persentase penghambatan dengan rumus sebagai berikut (Kloub 2019):

$$\text{Penghambatan (\%)} = 100\% - \left(\frac{\text{Xu}}{\text{Xk}} \right) \times 100\%$$

dimana Xu = pertumbuhan (%) pada larutan uji dan Xk = pertumbuhan (%) pada kontrol negatif.

Penetapan nilai aktivitas antiplasmodium dilakukan dengan menggunakan *software statistical package for the social sciences* (SPSS) IBM 21 dengan statistika regresi linier uji Probit (*Probability unit*) log dengan penentuan nilai IC_{50} atau konsentrasi bahan uji untuk menghambat pertumbuhan parasit sebanyak 50% dari persamaan yang dihasilkan dari persentase pertumbuhan dan penghambatan parasit. Signifikansi persentase penghambatan pertumbuhan plasmodium setiap sampel pengujian pada variasi konsentrasi dan signifikansi nilai IC_{50} ditentukan dengan uji statistika *One Way Analysis of Variance* atau ANOVA, bila nyata dilanjutkan dengan *Post Hoc Least Significance Different* (LSD) ($\alpha=0,05$).

Penapisan fitokimia dengan KLT

Metode penapisan fitokimia berdasarkan pada prosedur standar farmakognosi dengan

modifikasi (Evans 2009). Masing-masing ekstrak yang telah diperoleh ditapis menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mendeteksi profil beberapa senyawa metabolit sekundernya, seperti terpenoid, steroid, alkaloid dan flavonoid secara berturut-turut menggunakan penampak bercak *Liebermann-Burchard*, *Dragendorff* (Sigma Aldrich 44578), dan sitroborat serta diamati di bawah sinar UV 365 nm. Profiling fraksi aktif diamati spektroskopi menggunakan *TLC densitometer*, *TLC scanner* dan *TLC visualizer* pada plat silika F₂₅₄. Masing-masing fraksi sampel ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan menggunakan kloroform:metanol (1:1) dan dihomogenkan. Masing-masing filtrat sampel ditetaskan sebanyak 2 µl pada plate KLT F₂₅₄, kemudian dieluasi dengan eluen heksana:etil asetat:metanol (4:3:1) hingga 1 cm dari tepi atas. Hasil elusi selanjutnya disemprot menggunakan beberapa reagen penampak bercak *Liebermann-Burchard*, *Dragendorff*, dan sitroborat. Senyawa alkaloid dideteksi menggunakan pereaksi *Dragendorff* dengan hasil uji positif warna cokelat, jingga-cokelat hingga merah-jingga. Flavonoid dideteksi dengan pereaksi sitroborat, dimana hasil uji positif ditunjukkan adanya fluoresensi warna kuning hingga kuning kehijauan pada UV 365 nm. Kandungan terpenoid dideteksi dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*, dimana reaksi positif warna merah menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dan warna biru atau hijau yang merupakan senyawa steroid dibawah sinar UV 365 nm (Widyawaruyanti *et al.* 2014). Kromatogram yang terbentuk difoto dengan *TLC visualizer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun paliasa

Partisi menggunakan pelarut metanol pada ekstrak daun paliasa menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi, yaitu 36% (Tabel 1). Kemudian secara berturut-turut diikuti oleh pelarut heksana, etil asetat dan etanol. Pemilihan pelarut sangat berpengaruh terhadap nilai rendemen dan senyawa bioaktif yang dapat terekstrak. Semakin sesuai tingkat kepolaran pelarut dengan komponen penyusun dalam suatu jenis tumbuhan, maka semakin tinggi pula nilai rendemennya. Senyawa hidrofilik lebih mudah terisolasi menggunakan pelarut polar, sedangkan senyawa lipofilik lebih mudah terekstrak dengan pelarut nonpolar (Widyawaruyanti *et al.* 2014).

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi daun paliasa (*K. hospita*)

Table 1. The extract and fraction yield of paliasa leaves (*K. hospita*)

Pelarut	Indeks polaritas	Rendemen (%)
Etanol	5,2	7,09
Heksana	0,0	30
Etil asetat	4,4	9
Metanol	5,1	36

Septiana *et al.* (2017) mengungkapkan bahwa rendemen tertinggi dihasilkan apabila kandungan senyawa kimia dalam suatu jaringan tanaman memiliki sifat polaritas yang sama dengan media pelarutnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paliasa memiliki kandungan senyawa polar yang lebih tinggi dibandingkan senyawa nonpolar ataupun semipolar. Hal ini ditunjukkan dari nilai rendemen pada pelarut metanol yang lebih tinggi dibandingkan heksana, etil asetat atau etanol. Salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan nilai rendemen tersebut adalah metode ekstraksi yang berbeda. Rendemen ekstrak etanol diperoleh melalui proses remaserasi, sedangkan ekstrak metanol merupakan hasil dari ekstraksi cair-cair bertingkat. Seyd *et al.* (2012) menyatakan bahwa rendemen hasil ekstraksi cair-cair dipengaruhi oleh beberapa parameter lain seperti konsentrasi zat terlarut, sifat pelarut, pH larutan, suhu, hidrofobisitas komponen yang akan diekstrak. Parameter tersebut menyebabkan nilai rendemen ekstrak cair-cair sulit untuk diprediksi (Seyd *et al.* 2012). Rendemen ekstrak metanol diperoleh dari proses partisi cair-cair residu dari ekstraksi menggunakan etil asetat yang cenderung memiliki pH asam. Kondisi asam akan meningkatkan polaritas dari komponen yang akan diekstraksi sehingga tingkat kelarutannya dalam pelarut polar akan lebih tinggi. Oleh karena itu, pada penelitian ini residu ekstrak metanol lebih tinggi daripada etanol yang cenderung memiliki polaritas yang sama.

Pengujian aktivitas antiplasmodium secara *in vitro*

Pemberian bahan uji pada kultur *P. falciparum* diketahui mampu menghambat pertumbuhan plasmodium. Presentase penghambatan plasmodium tersebut semakin meningkat secara signifikan seiring dengan

kenaikan konsentrasi jenis ekstrak yang diberikan pada setiap kelompok (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa keempat jenis ekstrak pada penelitian ini memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan tingkat efektivitas yang berbeda-beda. Data persentase penghambatan pertumbuhan plasmodium selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} aktivitas antiplasmodium melalui analisis probit log. Nilai IC_{50} tersebut digunakan untuk menentukan tingkat efektivitas antiplasmodium berdasarkan pengkategorian yang berlaku.

Kategori ekstrak ataupun fraksi sebagai antiplasmodium terdiri dari: *highly active* ($IC_{50} < 5 \mu\text{g.ml}^{-1}$), *promisingly active* ($IC_{50} 5,1-10 \mu\text{g.ml}^{-1}$), *good activity* ($IC_{50} 10,1-20 \mu\text{g.ml}^{-1}$), *moderate activity* ($IC_{50} > 20,1-40 \mu\text{g.ml}^{-1}$), *marginal potency* ($IC_{50} > 40,1-70 \mu\text{g.ml}^{-1}$) dan *poor* atau tidak aktif ($IC_{50} 70,1$ hingga $> 100 \mu\text{g.ml}^{-1}$) (Singh *et al.* 2015). Berdasarkan kategori tersebut aktivitas antiplasmodium masing-masing ekstrak dan fraksi daun paliasa pada penelitian ini termasuk sangat aktif (*highly active*) dan aktif (*promisingly active* dan *good activity*) (Tabel 4).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi dan jenis ekstrak terhadap penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* secara *in vitro*
Table 2. The effect of extract type and concentration to the inhibition of *P. falciparum* growth in vitro

Jenis ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	Penghambatan (%)	Nilai p
Ekstrak etanol	0	-	0,000
	0,01	6,30 ^a	
	0,1	19,78 ^b	
	1	38,37 ^c	
	10	47,39 ^d	
	100	65,98 ^e	
Fraksi heksana	0	-	0,000
	0,01	18,04 ^a	
	0,1	31,95 ^b	
	1	47,83 ^c	
	10	58,59 ^d	
	100	86,85 ^e	
Fraksi etil asetat	0	-	0,000
	0,01	25,00 ^a	
	0,1	44,45 ^b	
	1	60,21 ^c	
	10	82,61 ^d	
	100	100 ^e	
Fraksi metanol	0	-	0,000
	0,01	3,26 ^a	
	0,1	12,50 ^b	
	1	31,41 ^c	
	10	46,63 ^d	
	100	69,24 ^e	
Artemisinin	0	-	0,000
	0,000001	14,29 ^a	
	0,00001	29,99 ^b	
	0,0001	41,99 ^c	
	0,001	73,45 ^d	
	0,01	100 ^e	

Keterangan: angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada masing-masing konsentrasi ekstrak pada setiap perlakuan tidak berbeda nyata dengan uji ANOVA satu jalur *post hoc test* LSD pada tingkat kepercayaan 5%

Note: the average number followed by the same letter for each extract concentration in each treatment was not significantly different by one-way ANOVA with *post hoc* LSD test at a 5% confidence level

Tabel 4. Aktivitas anti *P. falciparum* masing-masing ekstrak daun paliasa (*K. hospita*)
 Table 4. Anti *P. falciparum* activity of the extract of paliasa leaves (*K. hospita*)

Jenis ekstrak	IC ₅₀ (µg.ml ⁻¹)	Nilai p (IC ₅₀)	Aktivitas antiplasmodium
Ekstrak etanol	10,02 ^a	0,000	<i>promisingly active</i>
Fraksi heksana	3,69 ^b		<i>highly active</i>
Fraksi etil asetat	1,08 ± ^c		<i>highly active</i>
Fraksi metanol	11,69 ± ^d		<i>good activity</i>
Artemisinin	0,00033 ^e		kontrol positif
Klorokuin fosfat*	0,035 ^f		kontrol positif

*Hasil penelitian/research publication (Saga *et al.* 2011)

Keterangan: angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada masing-masing perlakuan tidak berbeda nyata dengan uji ANOVA satu jalur *post hoc test* LSD pada tingkat kepercayaan 5%

Note: the average number followed by the same letter in each treatment was not significantly different by one-way ANOVA with LSD *post hoc test* at a 5% confidence level

Fraksi etil asetat dan heksana daun paliasa termasuk dalam kategori *highly active* dengan nilai IC₅₀ mendekati klorokuin, sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antiplasmodium. Nilai IC₅₀ dua sampel, yaitu fraksi etil asetat dan heksana, memiliki kecenderungan mampu menyamai bioaktivitas klorokuin apabila dilakukan pemurnian lebih lanjut. Hal ini memberikan peluang pengembangan alternatif bahan baku obat baru untuk antimalaria melalui mekanisme sebagai antiplasmodium. Peluang tersebut didukung hasil penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa paliasa memiliki tingkat toksisitas rendah bahkan cenderung bersifat rehabilitatif. Fakta tersebut didasarkan pada publikasi ilmiah yang mengungkapkan bahwa ekstrak etanol daun paliasa pada dosis 25 mg.kg⁻¹ BB tikus mampu memperbaiki kerusakan liver dan ginjal yang disebabkan paparan *doxorubicin*. Ekstrak etanol daun paliasa juga diketahui memiliki kemampuan rehabilitasi sel jantung pada dosis 250 mg.kg⁻¹ BB tikus (Djabir *et al.* 2017). Nilai IC₅₀ untuk masing-masing jenis ekstrak pada penelitian ini berada di atas IC₅₀ kontrol positif, baik artemisinin (IC₅₀ 0,00033 µg.ml⁻¹ atau 0,001 µM) dan klorokuin (IC₅₀ 0,035 µg.ml⁻¹ atau 0,068 µM) (Saga *et al.* 2011). Nilai IC₅₀ masing-masing jenis ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan (Tabel 4). Perbedaan nilai IC₅₀ yang signifikan tersebut disebabkan adanya perbedaan jenis bahan uji yang dipergunakan, yaitu sampel berupa ekstrak dan fraksi sedangkan kontrol positif sudah berupa senyawa murni yang telah diedarkan. Ekstrak atau fraksi terdiri atas campuran beberapa senyawa kimia kompleks, sehingga terdapat beberapa senyawa yang bersifat antagonistik terhadap

senyawa lainnya. Kondisi tersebut yang mengakibatkan ekstrak ataupun fraksi memiliki aktivitas bioaktif yang lebih rendah daripada senyawa murni (Septiana *et al.* 2017). Oleh karena itu, sampel uji penelitian ini yang merupakan ekstrak dan fraksi dengan kandungan senyawa metabolit sekunder sangat kompleks, perlu dilanjutkan dengan beberapa tahap pemurnian hingga dapat diperoleh senyawa murni spesifik. Isolasi senyawa murni pada sampel uji yang tergolong kategori *highly active* diharapkan mampu meningkatkan nilai IC₅₀ aktivitas antiplasmodiumnya sehingga sebanding dengan kontrol positif yang telah beredar.

Penapisan fitokimia dengan KLT

Penapisan senyawa fitokimia pada ekstrak dan fraksi daun paliasa dengan metode KLT menunjukkan bahwa sebagian besar sampel mengandung golongan senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid. Namun, hasilnya berbeda dengan fraksi metanol yang hanya memiliki kandungan senyawa steroid (Gambar 3).

Beberapa hasil penelitian terdahulu mengungkapkan senyawa metabolit sekunder yang berhasil diidentifikasi dari paliasa, diantaranya golongan senyawa triterpenoid dan steroid pada kulit batang, serta steroid dan flavonoid pada daun (Kamarudin *et al.* 2016). Penelitian lain di Malaysia menemukan kandungan senyawa saponin dan alkaloid pada bagian daun. Sementara itu, daun yang berasal dari Desa Bincau Muara, Martapura diketahui memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid dengan kadar yang semakin meningkat (Yunita *et al.* 2009). Berdasarkan hasil analisis fitokimia pada

penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak dan masing-masing fraksi daun paliasa cenderung lebih banyak mengandung golongan senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid, sedangkan flavonoid tidak terdeteksi (Tabel 4).

Penggunaan pelarut sangat berpengaruh terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstrak. Hal ini disebabkan masing-masing senyawa metabolit sekunder memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Polaritas suatu senyawa terkait erat dengan kemampuan kelarutannya dalam suatu jenis pelarut (Felhi *et al.* 2017). Pelarut etil asetat dan heksana akan lebih banyak mengandung senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti alkaloid, triterpenoid dan steroid. Sama halnya dengan heksana dan etil asetat, senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid juga terdeteksi pada ekstrak etanol dan metanol yang cenderung bersifat polar. Namun, pada

penelitian ini baik pada ekstrak dan fraksi non polar ataupun polar tidak terdeteksi adanya senyawa flavonoid, kondisi tersebut dapat pula disebabkan oleh kuantitas senyawa flavonoid dalam sampel yang terlalu kecil. Menurut Tajuddeen dan Van Heerden (2019), senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas antiplasmodium dapat dikelompokkan menjadi tujuh kelas, yaitu endoperoksida, alkaloid, terpenoid, polifenol, kuinon dan poliketida, serta fosfotriester siklik (Tajuddeen dan Van Heerden 2019). Senyawa flavonoid tidak termasuk dalam tujuh kelas utama disebabkan hasil penelitian terkait aktivitas antiplasmodium golongan senyawa tersebut masih sangat terbatas. Hal ini dikarenakan senyawa flavonoid bersifat kurang efektif sebagai antiplasmodium dibandingkan golongan senyawa lain.

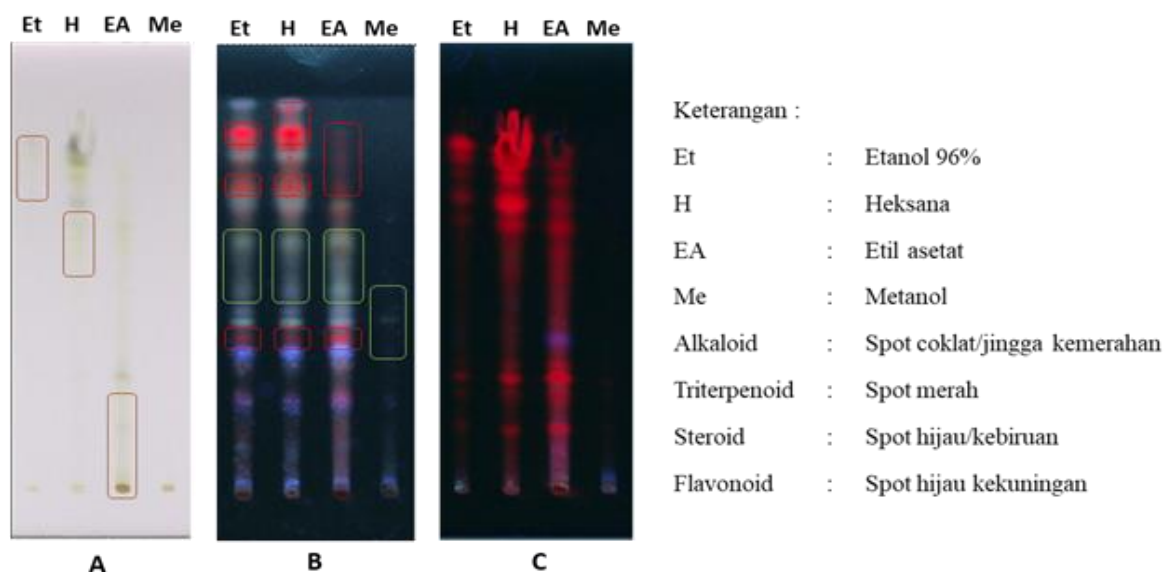
Tabel 4. Hasil penapisan fitokimia ekstrak dan fraksi daun paliasa (*K. hospita*)

Table 4. Phytochemical screening result of paliasa leaves (*K. hospita*) extract and fraction

Jenis ekstrak	Alkaloid	Triterpenoid	Steroid	Flavonoid
Ekstrak Etanol	+	+	+	-
Fraksi Heksana	+	+	+	-
Fraksi Etil asetat	+	+	+	-
Fraksi Metanol	-	-	+	-

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Note: (+)detected, (-) undetected



Gambar 3. Hasil penapisan fitokimia masing-masing sampel ekstrak daun paliasa (*K. hospita*) untuk golongan senyawa (A) alkaloid, (B) triterpenoid dan steroid, (C) flavonoid

Figure 3. Screening of phytochemical compound of paliasa leaves (*K. hospita*) extract for (A) alkaloids, (B) triterpenoids and steroids, (C) flavonoids

Senyawa alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa bahan alam yang memiliki potensi sebagai antiplasmodium, diantaranya kuinin, obat antimalaria pertama. Berdasarkan beberapa hasil penelitian yang telah dipublikasi dari tahun 1990 hingga 2000, terdapat lebih dari 100 golongan senyawa alkaloid yang berasal dari tumbuhan tingkat tinggi atau tumbuhan biji diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium. Bahkan, beberapa senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium lebih tinggi dibandingkan klorokuin (Saxena *et al.* 2003). Bisbenzylisoquinolin, morphinan alkaloid, naphthylisoquinolin, indoloquinolin, mono- atau bis-indole alkaloid, indolomonoterpenoid alkaloid, indol alkaloid, benzofenantridin alkaloid, acridone alkaloid, furoquinolin dan acridine alkaloid, serta tetrahydroquinoline alkaloid merupakan beberapa jenis golongan senyawa alkaloid yang telah diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium (Oliveira *et al.* 2009). Oliveira *et al.* (2009) juga mengungkapkan senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas antiplasmodium dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu (1) senyawa dengan kategori aktivitas antiplasmodium yang tinggi, struktur kimia yang sangat kompleks tetapi cukup sulit untuk disintesis, dan (2) senyawa dengan kategori aktivitas rendah hingga menengah, struktur kimia sederhana serta berpeluang untuk disintesis.

Triterpenoid juga telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antiplasmodium. Salah satu jenis triterpenoid, asam betulinik (penta siklik triterpen) mampu melakukan fusi dengan membran eritrosit kemudian masuk ke dalam sel melalui lipid bilayer sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan invasi oleh parasit malaria (Batista *et al.* 2009). Beberapa senyawa asam triterpenoid, triterpenoid pentasiklik, asam ursolat dan asam oleanolik merupakan beberapa senyawa golongan triterpenoid yang diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium (Cimanga *et al.* 2006; Herlina *et al.* 2011). Helmi (2016) mengungkapkan bahwa senyawa triterpenoid memiliki kemampuan menghambat sintesis protein dalam sel parasit ataupun berperan sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang dihasilkan oleh invasi parasit. Fakta tersebut menunjukkan bahwa beberapa jenis senyawa triterpenoid tergolong memiliki aktivitas antiplasmodium (Helmi *et al.* 2016).

Beberapa golongan senyawa steroid yang telah diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium, antara lain arylmethyramino steroid dan turunannya, estratriene dan turunannya, subkelas aminokresol, amodiakuin, sarachine, diosgenon/sapogenin steroid, 16 alpha-acetoxy-26-

hydroxycholest-4-ene-3,22-dione (SN-1) steroid (Cimanga *et al.* 2006; Helmi *et al.* 2016; Pabon *et al.* 2011). Sifat hidrofobik yang dimiliki oleh golongan senyawa steroid diketahui mampu memfasilitasi senyawa-senyawa aktif untuk dapat memasuki sel, sehingga aktivitas penghambatan plasmodium dapat berlangsung. Mekanisme antiplasmodium yang melibatkan senyawa steroid dapat terjadi pada tahapan perkembangan parasit dalam darah melalui penghambatan pembentukan hemozoin. Kelebihan lainnya dari golongan senyawa steroid sebagai antiplasmodium, diantaranya memiliki aktivitas pemblokiran proses transmisi, tersedia dalam bentuk oral dan sitotoksitasnya rendah (Krieg *et al.* 2017).

Menurut Uzor (2020), mayoritas bahan baku obat antimalaria dikembangkan dari senyawa alkaloid terpenoid dan steroid, yaitu suatu alkaloid yang memiliki kerangka terpenoid karena kelompok senyawa tersebut sangat aktif sebagai antiplasmodium. Salah satu senyawa utama yang berhasil diisolasi dari daun paliasa adalah senyawa sikloartane triterpenoid alkaloid (kleinhospitines A, B, C, D) yang juga termasuk dalam kelompok alkaloid terpenoid (Uzor 2020; Zhou *et al.* 2013). Aktivitas antiplasmodium yang tinggi pada daun paliasa, khususnya pada fraksi etil asetat dan heksana dalam penelitian ini kemungkinan dipengaruhi oleh kandungan senyawa tersebut. Namun, masih perlu dilakukan penelitian lanjutan sehingga diperoleh bukti yang lebih akurat dan pasti terkait jenis senyawa aktif spesifik tersebut. Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk memprediksi mekanisme antiplasmodium tersebut.

KESIMPULAN

Daun paliasa memiliki aktivitas anti *P. falciparum* terutama pada fraksi etil asetat dan heksana dengan kategori sangat aktif (*highly active*). Kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid diduga memegang peranan aktif sebagai antiplasmodium. Perbedaan nilai IC₅₀ antara ekstrak sampel uji dan kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan tingkat kemurnian senyawa bahan uji. Ekstrak dan fraksi tersusun atas gabungan senyawa metabolit sekunder kompleks yang dapat bersifat antagonistik. Oleh karena itu, diperlukan kajian lebih lanjut untuk memperoleh senyawa murni spesifik dari ekstrak dan fraksi daun paliasa, sehingga dapat dikembangkan sebagai alternatif bahan baku obat malaria baru.

SARAN

Penelitian pemisahan dan pemurnian

kandungan bahan aktif paliasa perlu dilanjutkan sampai diperoleh isolat senyawa aktif spesifik agar diketahui mekanisme aktivitas antiplasmodiumnya secara lebih terperinci.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Drs. Slamet Wahyono, M.Sc, Apt atas bimbingannya selama pelaksanaan penelitian. Hilkatul Ilmi, M.Si selaku analis *Tropical Disease Center* (TDC) Universitas Airlangga yang telah membantu dalam proses pengujian *in vitro* sampel penelitian. Nengah Ratri, A.Md, Endang Brotojoyo, A.Md, Kumiati, S.Si, Zulaikah Tri Hastuti, A.Md, dan tim penelitian lanjutan RISTOJA Antimalaria B2P2TOOT Tawangmangu yang telah membantu kelancaran pelaksanaan dan penyelesaian kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abiodun, O., Grace, G., Edith A., Tientcha, H., Mofolusho, F., Sergio, W., Akintunde, S., Reto B. & Ayoade, O. (2011) *In Vitro* Antiplasmodial Activity and Toxicity Assessment of Some Plants from Nigerian Ethnomedicine. *Pharmaceutical Biology*. 49 (1), 9–14. doi:10.3109/13880209.2010.490224.
- Arung, E.T., Irawan, W.K., Kim, Y-U., Shimizu, K., & Kondo, R. (2012) Antioxidative Compounds from Leaves of Tahongai (*Kleinhovia hospita*). *J Wood Sci*. 58, 77–80. doi:10.1007/s10086-011-1217-7.
- Batista, R., De Jesus Silva Junior, A. & De Oliveira, A. (2009) Plant-derived Antimalarial Agents: New Leads and Efficient Phytomedicines. Part II. Non-alkaloidal Natural Products. *Molecules*. 14 (8), 3037–3072. doi:10.3390/molecules14083037.
- Cimanga, R.K., Tona, G.L., Mesia, G.K., Kambu, O.K., Bakana, D.P., Kalenda, P.D.T., Penge, A.O., Muyembe, J-J.T., Totte, J., Pieters, L. & Vlietinck, A.J. (2006) Bioassay-guided Isolation of Antimalarial Triterpenoid Acids from The Leaves of *Morinda lucida*. *Pharmaceutical Biology*. 44 (9), 677–681. doi:10.1080/13880200601009123.
- Djabir, Y.Y., Arsyad, M.A., Sartini, & Lallo, S. (2017) Potential Roles of *Kleinhovia hospita* L. Leaf Extract in Reducing Doxorubicin Acute Hepatic, Cardiac and Renal Toxicities in Rats. *Pharmacognosy Research*. 9 (2), 168–173. doi:10.4103/pr.pr.
- Evans, W.C. (2009) *Trease and Evans Pharmacognosy 16th edition*. Saunders Elsevier.
- Felhi, S., Daoud, A., Hajlaoui, H., Mnafigui, K., Gharsallah, N. & Kadri, A. (2017) Solvent Extraction Effects on Phytochemical Constituents Profiles, Antioxidant and Antimicrobial Activities and Functional Group Analysis of *Ecballium elaterium* Seeds and Peels Fruits. *Food Science and Technology*. 37 (3), 483–492. doi:http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.23516.
- Giang, P.M. & Otsuka, H. (2018) New Compounds and Potential Candidates for Drug Discovery from Medicinal Plants of Vietnam. *Chem. Pharm. Bull.* 66 (5), 493–505.
- Ginsburg, H. & Deharo, E. (2011) A Call for using Natural Compounds in the Development of New Antimalarial Treatments – an Introduction. *Malaria Journal*. 10 (Suppl 1), BioMed Central Ltd, S1. doi:10.1186/1475-2875-10-S1-S1.
- Hafid, A.F., Puliansari, N., Lestari, N.S., Tumewu, L., Rahman, A. & Widyawaruyanti, A. (2017) Skrining Aktivitas Antimalaria beberapa Tanaman Indonesia Hasil Eksplorasi dari Hutan Raya Cangar, Batu-Malang, Jawa Timur. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 3 (1), 6–11. doi:10.20473/jfiki.v3i1.4086.
- Helmi, H., Afriyansyah, B. & Ekasari, W. (2016) The Effectiveness of Local Plants from Lom and Sawang Ethnic as Antimalarial Medicine. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 8 (2), 193–200. doi:10.15294/biosaintifika.v8i2.5437.
- Herlina (1993) Pengaruh Infus Daun Kayu Paliasa *Kleinhovia hospita* Linn. terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kelinci. Skripsi. Makassar: Jurusan Farmasi Fakultas

- MIPA, Universitas Hasanuddin. Halaman 1-68
- Herlina, T., Supratman, U., Subarnas, A., Sutardjo, S., Abdullah, N. R., & Hayashi, H. (2011) Aktivitas Antimalaria Triterpenoid Pentasiklik dari Daun *Erythrina variegata*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 12 (2), 161–166.
- Jontari, H., Kusnanto, H., Supargiyono, S., Hamim, S.A., Satyagraha, A.W., Novijanti, N., Triwibowo, A.G., Prihatin, M.T., Purwono, P. & Ida, D. (2016) Kajian Ilmiah Pre-Eliminasi Malaria di Wilayah Timur Indonesia. *OSIR*. 9 (1), 1–7.
- Kamarudin, N.A., Markom, M. & Latip, J. (2016) Effects of Solvents and Extraction Methods on Herbal Plants *Phyllanthus niruri*, *Orthosiphon stamineus* and *Labisia pumila*. *Indian Journal of Science and Technology*. 9 (21), 3–7. doi:10.17485/ijst/2016/v9i21/95235.
- Kloub, A.A. (2019) Short Communication: Methods of Estimating and Counting Malaria Parasites Density. *Ecronicon*. 10, 800–803.
- Krieg, R., Jortzik, E., Goetz, A.-A., Blandin, S., Wittlin, S., Elhabiri, M., Rahbari, M., Nuryyeva, S., Voigt, K., Dahse, H.-M., Brakhage, A., Beckmann, S., Quack, T., Grevelding, C.G., Pinkerton, A.B., Schonecker, B., Burrows, J., Davioud-Charvet, E., Rahlfs, S. & Becker, K. (2017) Arylmethylamino Steroids as Antiparasitic Agents. *Nature Communications*. 1–12. doi:10.1038/ncomms14478.
- Nindela, R. (2015) Merozoite Surface Protein-1 (MSP-1) dan Merozoite Surface Protein-2 (MSP-2) *Plasmodium falciparum* sebagai Kandidat Vaksin Malaria. *MKS*. 1 (1), 67–73.
- Noor, A., Kumanireng, A. S., Kartikasari, R., Suryaningsih, H. A., & Takbir, A. (2004) Isolasi dan Identifikasi Konstituen Organik Tanaman Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) pada Kelarutan berdasarkan Kelompok Polaritasnya. *Marina Chinica Acta*. 5 (2), 2–10.
- Oliveira, A.B., Dolabela, M.F., Braga, F.C., Jacome, R.L.R.P., Varotti, F.P. & Povo, M.M. (2009) Plant-derived Antimalarial Agents: New Leads and Efficient Phythomedicines. Part I. Alkaloids. *Annals of Brazilian Academy of Sciences*. 81 (4), 715–740. doi : 10.1590/S0001-37652009000400011
- Pabon, A., Deharo, E. & Blair, S. (2011) *Plasmodium falciparum*: *Solanum nudum* SN-1 Steroid Antiplasmodial Activity when Combined with Antimalarial Drugs. *Experimental Parasitology*. 127, 222–227. doi:10.1016/j.exppara.2010.08.009.
- Paramita, S. (2016) Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.): Review Sebuah Tumbuhan Obat dari Kalimantan Timur. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 9 (1), 29–36. doi:10.22435/toi.v9i1.6390.29-36.
- Raflizar & Sihombing, M. (2009) Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn) sebagai Obat Radang Hati Akut. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 8 (2), 984–993.
- Rathod, P.K., McErlean, T. & Lee, P.-C. (2002) Variations in Frequencies of Drug Resistance in *Plasmodium falciparum*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 94 (17), pp.9389–9393. doi:10.1073/pnas.94.17.9389.
- Ridley, R.G. (2002) Medical Need, Scientific Opportunity and the Drive for Antimalarial Drugs. *Nature*. 415 (6872), 686–693. doi:10.1038/415686a.
- Saga, M., Sara, F. & Ersam, T. (2011) Pengujian Aktivitas Antimalaria dan Insektisida Fraksi Etil Asetat dan Senyawa 5,7,2',5'',7'',4''-heksahidroksiflavanon-[3,8'']-flavon dari Batang *Garcinia celebica* Linn. In: *Prosiding KIMIA FMIPA - ITS*. KIMIA FMIPA - ITS.
- Saxena, S., Pant, N., Jain, D.C. & Bhakuni, R.S. (2003) Antimalarial agents from plant sources. *Current Science*. 85 (9), 1314–1329.

- Septiana, E., Umaroh, A., Gangga, E. & Simanjuntak, P. (2017) Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) sebagai Antimalaria. *Bul Littro*. 28 (1), 29–36. doi : 10.21082/bullittro.v28n1.2017.29-36
- Seyd, A.H., Lanez, T. & Belfar, M.L. (2012) Modelling of Yield and Distribution Coefficient in a Liquid-liquid Extraction: Effect of the Concentration of Ligand. *Asian Journal of Chemistry*. 24 (10), 4511–4516.
- Simamora, D. & Enggar Fitri, L. (2007) Resistensi Obat Malaria : Mekanisme dan Peran Obat Kombinasi Obat Antimalaria. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. XXIII (2), 82–91.
- Singh, N., KumarKaushik, N., Mohanakrishnan, D., Tiwari, S.K., Sahal, D. (2015) Antiplasmodial Activity of Medicinal Plants from *Chhotanagpur plateau*, Jharkhand, India. *Journal of Ethnopharmacology*. 165 : 152–162. doi:10.1016/j.jep.2015.02.038.
- Sitohang, V., Sariwati, E., Fajariyani, S.B., Hwang, D., Kurnia, B., Hapsari, R.K., Laihad, F.J., Sumiwi, M.E., Pronyk, P., & Hawley, W.A. (2018) Comment Malaria Elimination in Indonesia : Halfway There. *The Lancet Global Health*. 6 (6), 604–606. doi:10.1016/S2214-109X(18)30198-0.
- Suryawati, S. (1991) Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Paliasa *Kleinhovia hospita* Linn. terhadap hati Hewan Uji Mencit. Universitas Hasanuddin.
- Tajuddeen, N. & Van Heerden, F.R. (2019) Antiplasmodial Natural Products: An Update. *Malaria Journal*. 18 (1), 1–62. doi:10.1186/s12936-019-3026-1.
- Tanner, M., Greenwood, B., Whitty, C.J.M., Ansah, E.K., Price, R.N., Dondorp, A.M., Seidlein, L-V., Baird, J.K., Beeson, J.G., Fowkes, F.J.I., Hemingway, J., Marsh, K. & Osier, F. (2015) Malaria Eradication and Elimination : Views on how to Translate a Vision Into Reality. *BMC Medicine*. 13 (167), 1–22. doi:10.1186/s12916-015-0384-6.
- Uzor, P.F. (2020) Alkaloids from Plants with Antimalarial Activity: A Review of Recent Studies. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2020, 1–17. doi:10.1155/2020/8749083.
- Wahyono, S. (2017) Laporan Nasional Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat Berbasis Komunitas di Indonesia. *Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional*.
- Widyawaruyanti, A., Devi, A.P., Fatria, N., Tumewu, L., Tantular, I.S., & Hafid, A.F. (2014) In Vitro Antimalarial Activity Screening of several Indonesian Plants using HRP2 Assay. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (6), 125–128.
- Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C. & Syafruddin (2011) Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus champeden*). *JBP*. 13 (2), 67–77.
- Wijaya, H., Novitasari & Jubaidah, S. (2018) Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4 (1), 79–83.
- Yunita, Irwan, A. & Nurmasari, R. (2009) Skrining Fitokimia Daun Tumbuhan Katimaha (*Kleinhovia hospita* L.). *Sains dan Terapan Kimia*. 3 (2), 112–123.
- Zhou, C-X., Li Z., Gan, L-S. & Cao, Y-L (2013) Kleinhospitines A-D, New Cycloartane Triterpenoid Alkaloids from *Kleinhovia hospita* Linn. *Organic Letters*. (5), 1813–1816. doi: 10.1021/ol401066j